

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Miroslav SMRIGA, et al.

GAU:

SERIAL NO: NEW APPLICATION

EXAMINER:

FILED: HEREWITH

FOR: AGENTS AGAINST STRESS-INDUCED DISEASES

REQUEST FOR PRIORITY

COMMISSIONER FOR PATENTS
ALEXANDRIA, VIRGINIA 22313

SIR:

- ☒ Full benefit of the filing date of International Application PCT/JP02/02571, filed March 19, 2002, is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §120.
- ☐ Full benefit of the filing date(s) of U.S. Provisional Application(s) is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119(e):
- | <u>Application No.</u> | <u>Date Filed</u> |
|--|-------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Applicants claim any right to priority from any earlier filed applications to which they may be entitled pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119, as noted below. | |

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicants claim as priority:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NUMBER</u>	<u>MONTH/DAY/YEAR</u>
Japan	2001-085800	March 23, 2001
Japan	2001-382190	December 14, 2001

Certified copies of the corresponding Convention Application(s)

- ☒ are submitted herewith
- ☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee
- ☐ were filed in prior application Serial No. filed
- ☐ were submitted to the International Bureau in PCT Application Number
Receipt of the certified copies by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.
- ☐ (A) Application Serial No.(s) were filed in prior application Serial No. filed ; and
- ☐ (B) Application Serial No.(s)
- ☐ are submitted herewith
- ☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

Respectfully Submitted,

OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Stephen G. Baxter

Registration No. 32,884

Customer Number

22850

Tel. (703) 413-3000
Fax. (703) 413-2220
(OSMMN 05/03)

Vincent K. Shier, Ph.D.
Registration No. 50,552

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2001年 3月23日

出 願 番 号

Application Number:

特願2001-085800

出 願 人

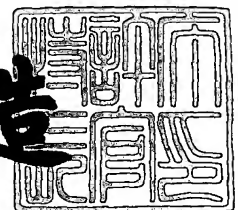
Applicant(s):

味の素株式会社

2001年 7月27日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2001-3066399

【書類名】 特許願

【整理番号】 2001-044

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1
味の素株式会社中央研究所内

【氏名】 ミロスラブ スムリガ

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1
味の素株式会社中央研究所内

【氏名】 畝山 寿之

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1
味の素株式会社中央研究所内

【氏名】 鳥居 邦夫

【特許出願人】

【識別番号】 000000066

【氏名又は名称】 味の素株式会社

【代表者】 江頭 邦雄

【電話番号】 044-244-7182

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 011202

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ストレス性疾患の予防剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ストレス性疾患を予防するためのリジンを含む医薬組成物または食品。

【請求項 2】 リジン欠乏に起因するストレス性疾患を予防するための請求項 1 記載の医薬組成物または食品。

【請求項 3】 ストレス性疾患が不安性障害、身体表現性障害、解離性障害、気分障害、消化器運動異常、過敏性腸症候群、消化器潰瘍のいずれかである請求項 1 ～ 2 記載の医薬組成物または食品。

【請求項 4】 リジンの摂取量が一日当たり 0.001 ～ 1.0 g / 体重 k g である請求項 1 ～ 3 記載の医薬組成物または食品。

【請求項 5】 リジンの摂取量が一日当たり 0.01 ～ 0.5 g / 体重 k g である請求項 1 ～ 4 記載の医薬組成物または食品。

【請求項 6】 摂取する形態が顆粒剤、錠剤または注射剤である請求項 1 ～ 5 記載の医薬組成物または食品。

【請求項 7】 ビタミン、無機質を含む請求項 1 ～ 6 記載の医薬組成物または食品。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ストレス性疾患の予防を目的とするリジンを含む医薬組成物および食品に関する。ストレス性疾患とは、不安性障害（パニック障害および全般性不安障害）、身体表現性障害、解離性障害、気分障害、過食症、神経性拒食症、睡眠障害、消化器運動異常、過敏性腸症候群、消化器潰瘍などの精神的ストレスに起因する疾患を包含するものである。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】

リジンはわれわれが摂取する穀物のなかの必須アミノ酸でもっとも欠乏しやすい

い。わが国を含めコメを主に食べる人びとは、動物性食品をあまり摂取せずにリジンやコムギを含む豆類を食べることによりリジン欠乏から逃れてきた。しかしながら、トウモロコシを主に食べる人びとはミルクや畜肉を食べないとリジン欠乏に陥ることとなる。今後、人口の増加に農業生産が追いつかなくなると、アジアを中心にリジン欠乏が起こることも想定される（鳥居邦夫，臨床栄養，1997，90(3):229-232）。また、近年、飽食の時代と言われる反面、高齢者の偏食および若年・青年の過激なダイエット等による栄養の偏りと病気との関係は栄養学的な側面から問題になっている。現状では、それらのグループにはいる人たちがどのような栄養状態にあり、どのような疾病を発症しやすいかに関する詳細な調査はないが、それらのヒトはリジン欠乏に陥りやすいことは容易に推測できる。

【0003】

本研究者らは、アミノ酸に関する栄養健康科学的研究を進める中で、上述のリジン欠乏が原因となり、外部環境からもたらされるストレスに対する抵抗性が著しく低下し、いわゆるストレス性疾患を誘発することを実験的に見出している。例えば、Graeffらの高架T字迷路試験（Graeff F. G., et al, J. Med. Biol. Res., 1993, 26:67-70）を用いると、リジン欠乏状態のラットが不安症状を悪化させることが判明した。また、水浸拘束ストレスモデルによる試験例では、リジン欠乏状態のラットでは胃潰瘍の症状が有意に増悪するのである。

【0004】

ストレス性疾患とは心理的あるいは身体的ストレス刺激（ストレッサー）が直接あるいは脳の情動系を介して自律神経系や内分泌系に影響を与え、脳（精神）自体あるいは末梢臓器に器質的病変をもたらすものである。ストレス性疾患と実際の病気との正確な関連付けはされていないが、ここでいうストレス性疾患とは、不安性障害（パニック障害および全般性不安障害）、身体表現性障害、解離性障害、気分障害などの神経症、消化器運動異常、過敏性腸症候群、消化器潰瘍などを包含するが、不整脈、狭心症、高血圧症などの循環器障害、リンパ球機能異常などの免疫障害、過食症・神経性拒食症、脱毛、インポテンツなども含まれる。また、心身症と分類されるべきものもすべて含まれる。

【0005】

これらのストレス性疾患を治療する医薬としては心理的ストレスの緩和を目的とした、抗不安薬（ベンゾジアゼピン誘導体など）、抗うつ薬（モノアミン取りこみ阻害薬、三環系薬剤など）や、末梢臓器の気質的病変に対する対症療法的薬剤（たとえば胃潰瘍の場合は制酸剤、胃粘膜保護剤、酸分泌抑制剤など）の開発が多くなされている。しかし、これらの医薬品は効果を発揮するものの、依存性や副作用等と表裏一体であり根本治療には至っていない。また、栄養的改善として、カルシウム、ある種のビタミン添加の試みもなされているが、明確な治療成績は得られていない。また、これらのストレス性疾患の発祥を予防する薬剤、食品についてもいまだに開発されていないのが現状である。

【 0 0 0 6 】

また、近年、生活の質の改善（Quality of Life; QOL）が医療の現場でも重要視されてきている。過度な精神ストレスは、個々人の病後のみならず日常生活のQOLを低下させている。これらQOLの改善を目的とした生活改善薬、予防薬は近年待望され、多くの企業がその開発に取り組んでいるが、安全でしかも根本療法的なものにはたどりついていない。

【 0 0 0 7 】

ストレス性疾患に対する医薬品、食品の予防効果、治療効果は、ラットを用いたモデル実験により、評価することができる。不安障害に対する効果については、抗不安薬の評価系にも取り入れられている高架十字迷路を用いた不安症状の評価モデルで評価される。過敏性腸症候群については、Wrap Stress resistant model (WRS)により評価できる。また、消化器潰瘍に対する効果については、水浸拘束ラットによる評価方法が適用可能である。これらの評価方法は消化器系医薬の薬効評価手法として広く用いられている（Grapeff FG, et al., J. Med. Biol. Res., 1993, 26: 67-70; Grapeff FG, et al., Pharmacol. Biochem. Behav., 1996, 54: 129-141; Ito C., et al., J Pharmacol Exp Ther 1997, 280(1):67-72; Kishibayashi N. et al., Jpn J Pharmacol 1993, 63:495-502; Takenaka H., et al., Planta Med 1993, 59:421-4; Itoh Y., et al., Digestion 1991, 48:25-33; Tanaka T., et al., Arzneimittelforschung 1993, 43:558-62）。

【 0 0 0 8 】

また、ストレス性疾患発症の指標のひとつとして、神経伝達物質のひとつであるセロトニンが知られている。セロトニンは脳の情動をつかさどる部位である扁桃核において喜怒哀楽を生み出す神経伝達物質の一つとして注目されているが、ラットなどの動物において、扁桃核におけるセロトニン濃度の上昇は不安に対する閾値を下げ不安症状を誘発し、セロトニン濃度の減少は不安様症状を軽減することが実験により確かめられている (Gardner C.R., Pharmacol Biochem Behav. 1986, 24:1479-85; Chung et al., Neuroscience. 2000, 95:453-63; Kilt et al., Psychopharmacology (Berl). 1981, 74:290-6)。また、実験ストレス性胃潰瘍モデルにおいて脳内セロトニンシステムの異常が報告されており (Hellhammer et al., Psychosom Med 1983, 45:115-22)、ストレス性胃潰瘍モデルおよび過敏性腸症候群モデルに於いて、セロトニン拮抗作用を持つ薬剤は治療効果をもたらすことが確認されている (Mertz HR, Curr Gastroenterol Rep 1999, 1:433-40; Camilleri M, Am J Med 1999, 107:27S-32S; Erin N, et al., Peptides 1997, 18:893-8)。これらの知見から、ストレス性疾患の予防効果を評価する方法として、脳内セロトニン濃度の測定が有効であると考えられる。

【 0 0 0 9 】

【発明が解決しようとする課題】

ストレス性疾患と総称される一群の疾患を予防する医薬組成物及び食品を提供することが本発明の解決しようとする課題である。このストレス性疾患には、例えば不安性障害（パニック障害および全般性不安障害）、身体表現性障害、解離性障害、気分障害などの神経症、消化器運動異常、過敏性腸症候群、消化器潰瘍等の疾患が含まれる。

【 0 0 1 0 】

本研究者らは、上述のような背景のもとに鋭意研究を行った結果、食糧事情を背景因子とするリジンの欠乏によりストレス性疾患が発症する事実を見出した。即ち、リジン欠乏の栄養状態において、あらかじめリジンを摂取せしめることにより、上述のような不安性障害（パニック障害および全般性不安障害）、身体表現性障害、解離性障害、気分障害などの神経症、消化器運動異常、過敏性腸症候群、消化器潰瘍などのストレス性疾患を予防できることを見出し、本発明を完成

した。

【0011】

【課題を解決するための手段】

本発明は、ストレス性疾患を予防するためのリジンを主薬として含有する医薬組成物、またはリジンを添加した食品を提供するもので、以下の項目を包含する。

(1) ストレス性疾患を予防するためのリジンを含有する医薬組成物または食品。

(2) リジン欠乏に起因するストレス性疾患を予防するためのリジンを含有する医薬組成物または食品。

(3) ストレス性疾患が不安性障害（パニック障害および全般性不安障害）、身体表現性障害、解離性障害、気分障害などの神経症、消化器運動異常、過敏性腸症候群、消化器潰瘍である(1)～(2)に記載の医薬組成物または食品。

(4) リジンの摂取量が一日当たり0.001～1.0g/体重kgである(1)～(3)に記載の医薬組成物または食品。

(5) リジンの摂取量が一日当たり0.01～0.5g/体重kgである(1)～(4)に記載の医薬組成物または食品。

(6) 摂取する形態が顆粒剤、錠剤または注射剤である(1)～(5)に記載の医薬組成物または食品。

(7) ビタミン、無機質を含む(1)～(6)に記載の医薬組成物または食品。

【0012】

ここで述べるストレス性疾患とは、心理的ストレッサーにより発症する疾患の総称であり、(3)に記載の各種疾患のほか、いわゆる心身症と呼ばれる疾患もすべて入る。

【0013】

【発明の実施の形態】

リジン欠乏に起因するストレス性疾患は、リジン含有量の少ないトウモロコシなどを主食とし、他の食物からのリジンの摂取も少ない食生活を継続的に送る場合に発症することが考えられる。また、高齢者の偏食および若年・青年の過激な

ダイエット等により栄養が著しく偏った場合にもリジン欠乏に至り、ストレス性疾患を発症しやすくなることが想定される。このような食生活をしている人に対して、一日当り $0.001 \sim 1.0 \text{ g} / \text{体重 } k \text{ g}$ 、好ましくは $0.01 \sim 0.5 \text{ g} / \text{体重 } k \text{ g}$ の量のリジンを顆粒剤や散剤の形態に製剤化し、服用することで、効果的にストレス性疾患の発症を予防することができる。製剤化に際しては、甘味剤やフレーバーを添加してその味や風味を改善することができる。製剤の形態は、これに限らず、懸濁剤やシロップ剤などの液剤とすることも可能である。この場合にも前述のように甘味剤やフレーバーの添加により、味や風味の改善ができることは同様である。必要に応じて、ビタミンや無機質を添加することも可能である。また、注射剤として静脈内投与することも可能である。これらの製剤を製造するには、製薬工業で一般に用いられている技術を使用すれば容易である。

【 0 0 1 4 】

また、このリジン含量を強化した食品として摂取することによっても、リジン欠乏に由来するストレス性疾患を予防することができる。例えば、リジン含量の少ないトウモロコシ等の穀物にあらかじめリジンを添加しておき、これを主食として食すればストレス性疾患の発症は有意に抑制できることになる。摂取量としては、一日当たり $0.001 \sim 1.0 \text{ g} / \text{体重 } k \text{ g}$ 、好ましくは $0.01 \sim 0.5 \text{ g} / \text{体重 } k \text{ g}$ が適当である。

【 0 0 1 5 】

さらにリジンを有効成分とする飲料や、医療用食品、あるいは健康食品の形態で、リジンの摂取を増加させることも、リジン欠乏に起因するストレス性疾患を予防する手段として有効である。

【 0 0 1 6 】

【実施例】

次に実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【 0 0 1 7 】

実施例 1 (不安症の評価モデル)

リジン含有量の少ない小麦グルテンを主原料に用いて低リジン食を調製した。

これはリジンの理想要求量の1/4を含み、なおラットの体重増加を維持できるリジン含有食である。一方、この低リジン食にリジンを理想要求量にまで添加したリジン添加食（窒素源を均一するためにグルタミンに代えてリジンを相当量添加）を調製した。表1に今回実験に用いた、低リジン食およびリジン添加食の組成を示した。Wistar系ラット（雄、5週齢）を各実験食で2週間飼育後実験に用いた（各群n=6）。高架T字迷路試験はGraeffらの方法を参考として行った。すなわち、地上から0.9メートルの所に、一箇所が箱に、残る2箇所がオープン環境になるようにしたT字迷路を設置した。そして、最初にラットを箱内に置き、その後の探索行動をテレビモニターを通じて観察した。単純な高架十字迷路試験での探索行動時間、探索行動回数はリジン添加食飼育ラットと低リジン食飼育ラットでは差は認められなかった。しかし、実験を開始する直前に軽度のストレス（フットショックストレス）を負荷するとリジン添加食飼育ラットでは探索行動時間・探索行動回数ともに低下は認められなかったが、低リジン食飼育ラットでは有意（ $P<0.05$ ）な低下が認められた（図1）。すなわち不安症状の悪化が観察された。フットショック後のラット脳（扁桃体）のセロトニン濃度をマイクロダイアリシス法により経時的に測定したところ、低リジン食飼育ラットではリジン添加食飼育ラットと比べて有意に増加することがわかった（図2）。扁桃体は情動などの感情の中枢で、セロトニンはその伝達物質の一つと一般的に考えられている。これらより、リジン欠乏は不安状態を増強することが行動科学、神経化学的に示され、食餌中のリジンを補うことでそれらの状態が改善されることが明らかとなった。

【表 1】

	低リジン食 (組成比 %)	リジン添加食 (組成比 %)
Corn starch	20.16	19.89
Gulten Mix	28.07	28.07
Pre Mix45	45	45
Vitamin E	0.01	0.01
Corn Oil	5	5
L-lysine	0	1.35
L-glutamine	1.76	0.68
Total	100	100

【0018】

実施例 2 (過敏性腸症候群のモデル)

電車に乗るとトイレに行きたくなる、あるいは、重要な会議でのプレゼンテーションの前にトイレに行きたくなる、などの経験をする人も多い。これは、消化管運動、特に排便運動が精神的ストレスにより亢進した結果である。より強いストレスが加わると、下痢様症状となる。これらの症状がひどい人たちは、過敏性腸症候群と呼ばれ、治療を要する。

【0019】

ラットなどの小動物も、軽度ストレスを加えると、排便活動が亢進することが知られている。具体的には、ラットの両前足をテープで体にゆるく固定し（ラップストレス）、自然な行動ができなくさせたあと、排便量を観察する。これは Wrap Stress resistant model (WRS) と呼ばれ、過敏性腸症候群の治療を目的とした医薬品の探索に用いられている。

【0020】

Wistar系ラット（雄、5週齢）を2週間リジン添加食およびリジン欠乏食（表1）で飼育した（各群10匹）。WRSモデルは Ito C (J Pharmacol Exp Ther 1997, 280:67-72) および Kishibayashi N (Jpn J Pharmacol 1993, 63:495-502) らの方法を参考に行った。すなわち、ラットの前肢を綿テープで体に縛り、飼育ブラケットケージに放置し、排泄される糞を10分間隔で採取した。図3にラップストレス負荷後150分までの排便数および排便重量を30分ごとに集計した結

果を示した。リジン添加食、低リジン食摂取ラットともに、WRS開始30分以内に排便活動のピークが見られ、その後沈静化し、1時間～2時間にかけて緩やかな排便活動のピークが認められるという2相性の反応を示した。第1相に観察される急激なストレス性排便の排便数・排便重量は両者に差は認められなかった。しかし、遅れて出てくる第2相の緩序ストレス性排便の排便数・排便量はともに低リジン食摂取ラットのほうが有意 ($p<0.05$) に多かった。すなわち、心理的ストレスによる排便をリジン欠乏は増強させ、リジン添加食摂取によりこれらは改善されることが示された。

【0021】

実施例3（ストレス性胃潰瘍のモデル）

ラットを低リジン食およびリジン不足分を補ったリジン添加食（表1）で3週間飼育した。18時間絶食後、ラットをストレスゲージ（夏目製作所、KN-468）に入れて6時間、胸部まで浸水（温度22～25度）させた。その後、胃を摘出し、胃内出血の度合いをNHIイメージソフトウェアを用いて胃内出血面積を算出した。図4に結果を示した。低リジン食飼育ラットではリジン添加食飼育ラットと比べ、水浸拘束による胃内出血面積比（総胃内面積に対する出血部位面積の割合）が有意に増加していた。本モデルでは、胃内出血と胃潰瘍の発生には相関が認められている。即ち、低リジン食で発症するストレス性胃潰瘍は食餌中へのリジン添加で防ぐことができると判断される。

【0022】

【発明の効果】

上述の結果から、リジン欠乏状態になれば、ストレス性疾患が発症しやすくなるので、その予防剤として、リジンを含有する医薬組成物、または食品が有効であることは明らかである。ここにいうストレス性疾患とは、不安性障害（パニック障害および全般性不安障害）、身体表現性障害、解離性障害、気分障害などの神経症、過敏性腸症候群、消化器潰瘍、及びいわゆる心身症を包含するものである。

【0023】

【図面の簡単な説明】

【図 1】ラットの箱内停留時間と探索行動回数を示した図である。

【図 2】ラット脳（扁桃体）のセロトニン濃度変化を示した図である。

●：低リジン食を摂取したラットのセロトニン放出量；

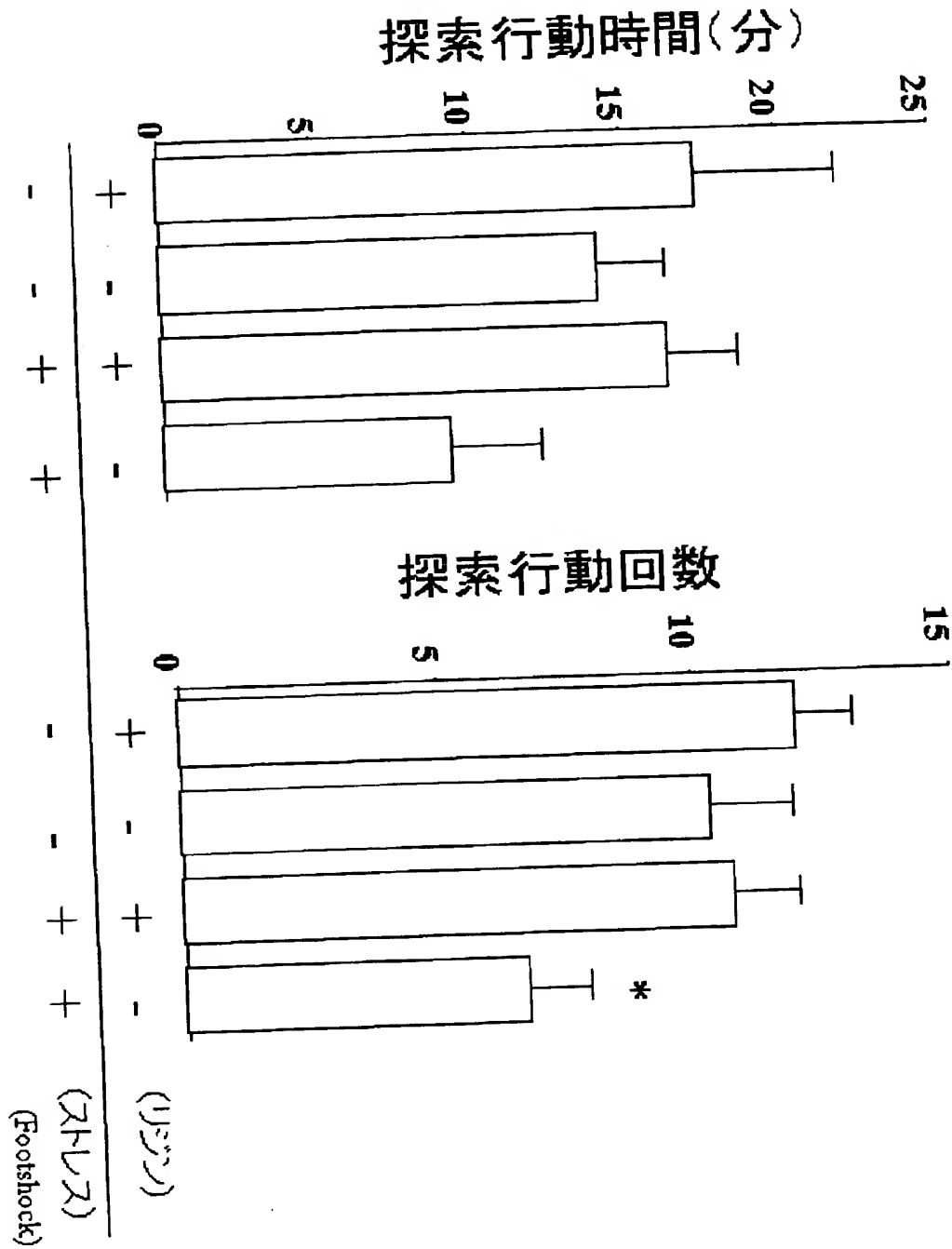
○：リジン不足分を補ったリジン添加食を摂取したラットのセロトニン放出量。

【図 3】ラップストレス負荷後のラットの排便数および排便重量を示した図である。

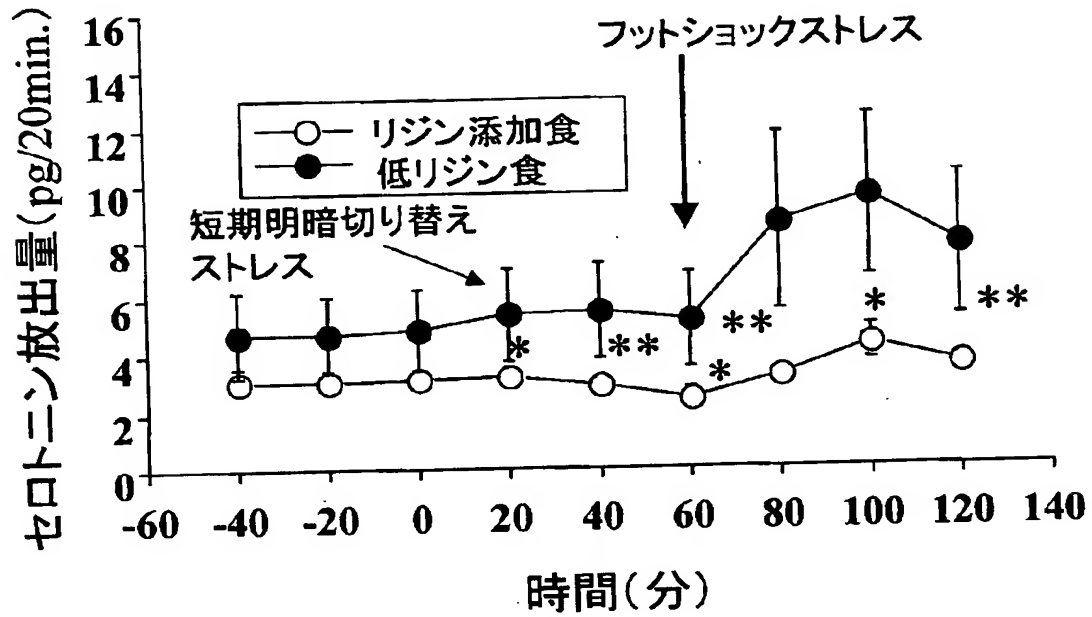
【図 4】ラットの胃内出血面積を比較した写真とグラフである。写真については、物件提出書を別に提出する。

【書類名】図面

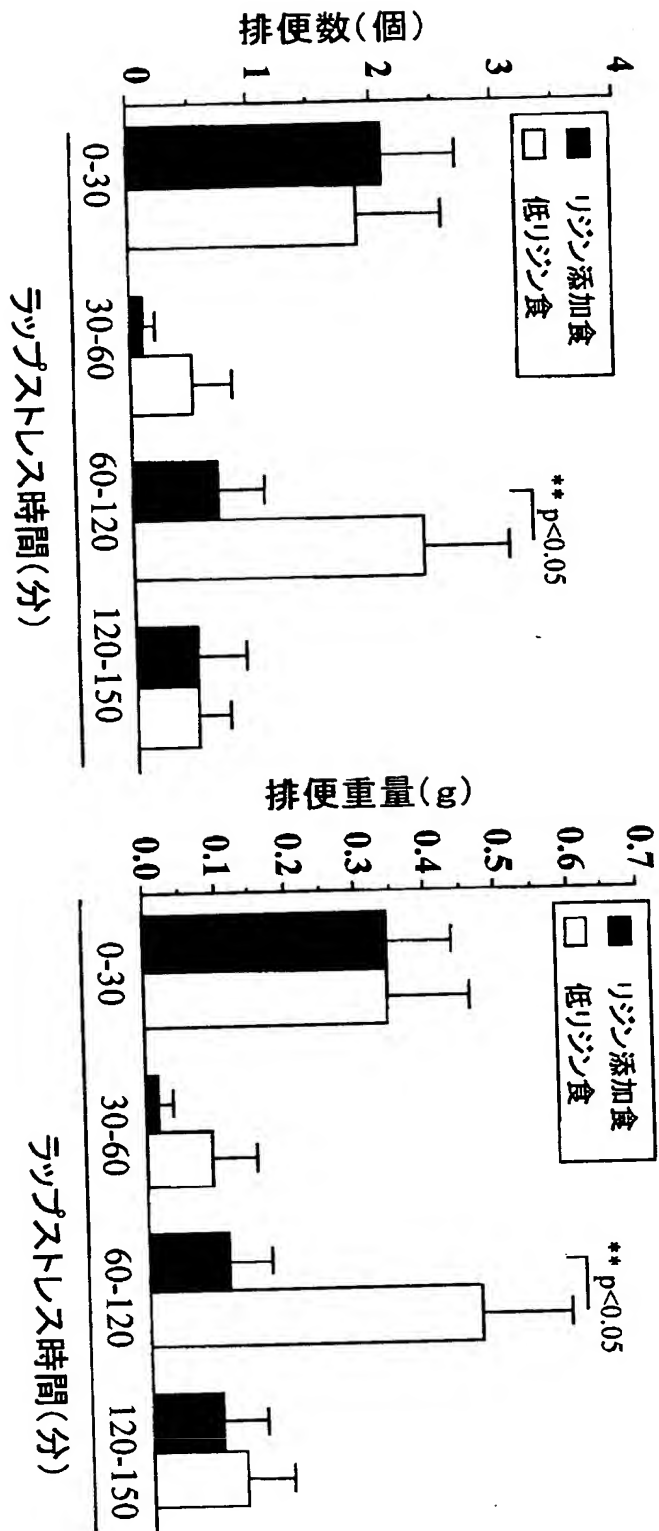
【図1】



【図2】

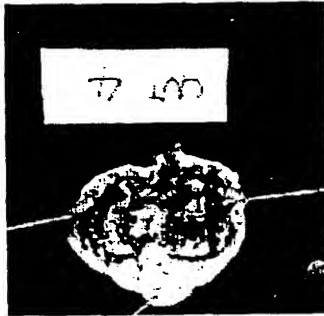


【図3】

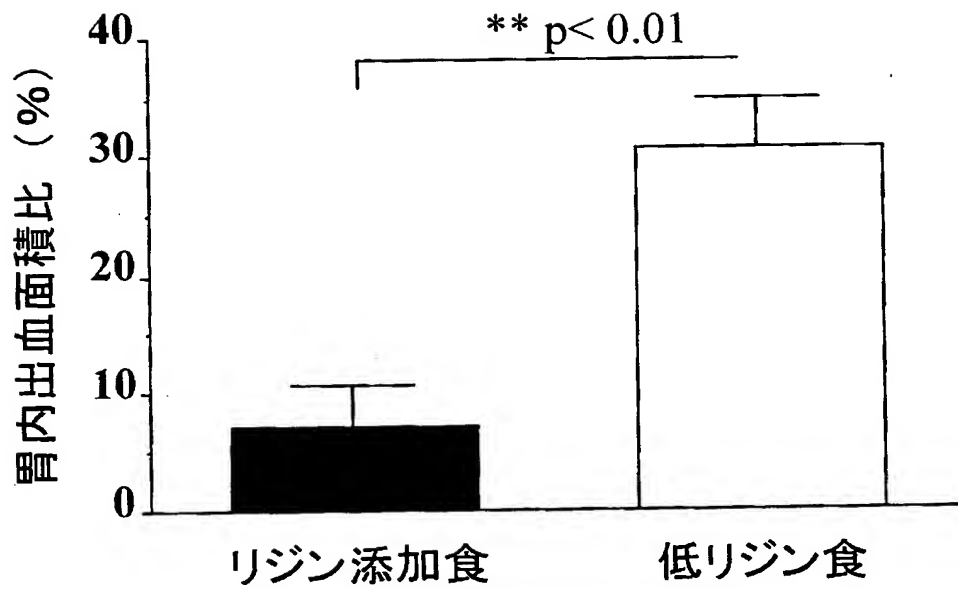
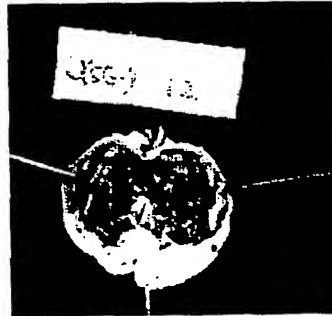


【図4】

A) リジン添加食



B) 低リジン食



【書類名】要約書

【要約】

【課題】

必須アミノ酸のひとつであるリジンが欠乏すること起因して発症するストレス性疾患と総称される一群の疾患を予防するための予防剤を提供する。

【解決手段】

リジンを主薬として含有する医薬組成物を投与する、またはリジンを添加した食品を摂取することにより、不安性障害、過敏性腸症候群、消化器潰瘍などのストレス性疾患を予防する。

【選択図】なし

特2001-085800

特2001-085800

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2001-085800
受付番号	50100420240
書類名	特許願
担当官	第三担当上席
作成日	平成13年 3月26日

<認定情報・付加情報>

【提出日】

平成13年 3月23日

次頁無

特2001-085800

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0000000066]

1. 変更年月日

1991年 7月 2日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都中央区京橋1丁目15番1号

氏 名

味の素株式会社